

# NEWS LETTER

No.32 Jun. 2002

Japanese Society For Cancer Prevention

日本がん予防研究会

## 酸化ストレス発がんの 標的遺伝子 —その新しいコンセプト—

豊國 伸哉

(京都大学大学院医学研究科  
基礎病態学講座病態生物医学 助教授)



### 1. 酸化ストレスと発がん

酸化ストレスは、「活性酸素・フリーラジカルによる負荷から、抗酸化剤・抗酸化酵素・分子傷害の修復酵素などによる消去・防御・修復作用をさしひいたもの」であると定義される。活性酸素が過剰に生成する病態は、紫外線・放射線照射、鉄・銅などの遷移金属による傷害、

ウイルス感染症、炎症、抗がん剤の薬理作用、移植や心筋梗塞に伴う虚血・再灌流傷害など多岐に渡る。ここで興味深いことは、再灌流傷害以外の上記病態はすべて、ヒトにおいて発がんとの関連が指摘されているということである。すなわち、紫外線による皮膚癌、放射線による白血病、鉄の過剰蓄積による肝細胞癌(原発性ヘモクロマトーシス)や悪性中皮腫(アスベスト繊維の吸引による、アスベストの鉄含量は約30%と高いことが知られる)、B型・C型慢性肝炎後の肝硬変に伴う肝細胞癌、重症火傷後の皮膚癌、結核性胸膜炎・膿胸に伴うリンパ腫、化学療法後の2次発がんなどである。全例において酸化ストレスが主要因として働いているかどうかは不明であるが、これらは発がんを酸化ストレスと結びつける重要な証拠と考えられる。さらに、活性酸素は、私たちが生きている限り、常に体内で発生しており、フリーラジカル反応により生じた副産物の修復・処理酵素の活性が減少すれば、内因性の活性酸素の寄与も無視できなくなると考えられる。

発がんのメカニズムに関する研究は、この四半世紀の間に長足の進歩を遂げた。「がんは、ゲノムDNAあるいは細胞周期の病気である」というコンセプトが確立されたが、これは「がん遺伝子」お

よび「がん抑制遺伝子」の発見による。ここで私たちが問題としたのは、果たして酸化ストレス発がんにおいて、標的となる遺伝子が存在するのであるかということである。共有結合を改変するフリーラジカル反応は大変速いものである。たとえば、ヒドロキシラジカルとグアニンの二次速度定数は $1.0 \times 10^{10} \text{M}^{-1}\text{S}^{-1}$ である。この状況では、フリーラジカルの発生した場所で即座に反応が起るため、すべてのゲノム領域が同じ確率で傷害を受け、したがって決まった標的遺伝子はないであろうという仮説が成立する。しかし、私たちはこの考え方に疑問を持ち、以下のような実験を行った。

### 2. 酸化ストレスによる発がんモデルとその標的遺伝子

私たちは1982年の岡田 茂博士による観察<sup>1)</sup>以来、当教室において、鉄ニトリロ三酢酸 (ferric nitrilotriacetate) によるラット腎発がんモデルを酸化ストレスによる発がんモデルとして確立し、研究を重ねてきた。このモデルの特徴は、1) 腫瘍が上皮由来、2) 転移や浸潤が高率、3) 鉄を介した酸化ストレスを実証できるという3点である。その詳細なデータについては、これまでに発表された総説に譲る<sup>2,3)</sup>。このモデルにおいて特異的標的となる遺伝子は存在するのか、ある

### 目次

酸化ストレス発がんの標的遺伝子—その新しいコンセプト— (豊國伸哉) .....	1
食事ポリフェノール・フラボノイドはがんを予防できるか (金沢和樹) .....	2
細胞増殖に対するカロテノイドの作用 (長尾昭彦) .....	4
ワサビ中の第二相解毒酵素誘導物質に関する研究 (森光康次郎) .....	5
クルクミノイドと「がん予防」 (大澤俊彦) .....	6
第8回国際環境変異原学会奈良サテライトミーティング (ICEM8-NARA) 報告 (中江 大) .....	9

# NEWS LETTER

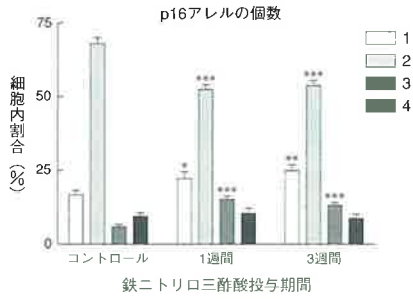


図1 鉄ニトリロ三酢酸反復投与後のラット腎臓尿管細胞におけるp16がん抑制遺伝子のアレル数の解析 (\*, p<0.05; \*\*, p<0.01 vs コントロール)

とすればそれはどの遺伝子かについて、私たちはF<sub>1</sub>ハイブリッド動物で作製した腫瘍を使用して、アレル損失解析により検討した。この方法は、Knudsonのtwo hitセオリーに則り、がん抑制遺伝子をスクリーニングする方法である。すなわち、がん抑制遺伝子では両方のアレルが不活性化されて、初めてある形質が変化するが、一般的に遺伝子の片側にアレル損失がおこると、残ったアレルに更に点突然変異や欠損がおこりやすくなるとされている。もし、決まったがん抑制遺伝子が不活性化されるのであれば、染色体上の決まった領域にアレル損失が集積するはずである。

この戦略により、私たちは、鉄ニトリロ三酢酸の標的遺伝子のひとつがp15<sup>INK4B</sup>/p16<sup>INK4A</sup>がん抑制遺伝子であることを見いだした。更に、この標的遺伝子に起こる変異のほとんどは点突然変異ではなく欠損であり、5'プロモーター領域のメチル化も併存していた。p15/p16遺伝子のアレル損失は44%に、不活性化は38%に認められた<sup>7)</sup>。

p15/p16遺伝子の変異・不活性化は、ヒト腫瘍においてもp53がん抑制遺伝子について頻度の高いものである。しかも、酸化ストレス発がんと考えられる悪性中皮腫で約50%とホモ欠損の頻度が高い<sup>8)</sup>。p15/p16はcyclin-dependent kinaseの阻害をしておりrb pathwayの上流にあり、いわゆるgatekeeperの代表的なものである。また、p16遺伝子が報告されてから1年後にそのさらに上流にexon部分(exon 1β)が発見され、alternative splicingによりp19(exon 1β, 2, 3)という別のタンパク質をコードしていることが明らかにされた。しかも、p19はp53 pathwayに関連し、p53蛋白の分解に関係するubiquitin ligaseを阻害する機能があった<sup>9)</sup>。従って、p16遺伝子部分は、ふたつのpathwayに関係するという事より、ゲノムにおいて扇の要にあたるもいえる。

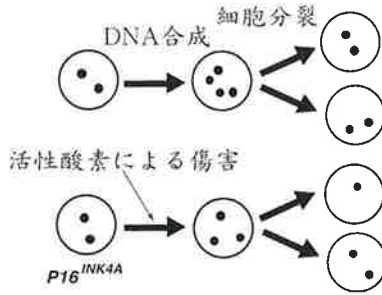


図2. アレル数異常細胞出現のメカニズムに関する仮説

### 3. p16のアレル損失はいつ起こるのか

次に、このアレル欠損が発がんのどの時期に起こるのかを検討した。がんは基本的にモノクローナルであるが、発がん過程においては種々の細胞が混ざりあっている。私たちは捺印細胞診とin situ hybridizationを組み合わせたという方法を考案し、腎臓の尿管細胞のp16遺伝子のアレル数を数え、それぞれの割合を求めた。この際、p53とvhl遺伝子座をコントロールとしたが、驚いたことにp16遺伝子座のみにおいて、鉄ニトリロ三酢酸連続投与わずか1週間より、アレル3個の細胞の割合が増加し、アレル1個の割合も有意に増加した(図1)<sup>7)</sup>。このことは、わずか1週間の強い酸化ストレスによりp16遺伝子座特異的にアレル損失が起こることを意味する。喫煙の関係した肺癌ではp16遺伝子の欠損が高頻度に認められるという報告<sup>8)</sup>もあり、私たちの観察はがん予防を考える上でも重要な知見と考えられる。図に私たちの仮説を示す(図2)が、p16遺伝子座はゲノムの中で、酸化ストレスに特に弱い部位である可能性が高い。今後は、これが鉄を介したラジカル反応だけに特異的なものか、また、ヒトにあてはめることができるのかを検証していくことが重要である。

### 4. おわりに

フリーラジカル反応は、特に試験管内では、特異性がなく近傍のどんな分子とも反応するのが特徴であるとされてきた。しかしながら、私たちのデータは、思いがけずこの仮説に反するものとなった。すなわち、フリーラジカル反応も、生体というひとつのブラックボックスを通ると特異的な反応になりうるということの意味している。同様の特異性が、蛋白質に関してもあてはまることが明らかになりつつある。このような標的遺伝子座、蛋白質が解明されていけば、がん予防をはじめとする疾病の予防に大きく貢献するであろう。

### 文献

- 1) Okada S. & Midorikawa O. *Jpn. Arch. Intern. Med.* **29**, 485 (1982)
- 2) Okada S. *Pathol. Int.* **46**, 311 (1996)
- 3) Toyokuni S. *Pathol. Int.* **49**, 91 (1999)
- 4) Tanaka T. *et al. Oncogene* **18**, 3793 (1999)
- 5) Liggett W. H., Jr. & Sidransky D. *J. Clin. Oncol.* **16**, 1197 (1998)
- 6) Kamijo T. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **95**, 8292 (1998)
- 7) Hiroyasu M. *et al. Am. J. Pathol.* **160**, 419 (2002)
- 8) Sanchez-Cespedes M. *et al. Cancer Res.* **61**, 2092 (2001)

## 食事ポリフェノール・フラボノイドはがんを予防できるか

金沢 和樹  
(神戸大学 食品・栄養化学)



ポリフェノール・フラボノイドは健康食品の代名詞のように使われるほどのブームになり、多彩な生理活性が報告されている。これらは植物が生産する成分で数十万種類存在するといわれている。種類が多いのは、植物がこれらを糖を結合した配糖体の形で貯蔵しており、糖の種類や結合様式が多様なためである。しかし生理活性があるのは骨格構造(アグリコン)である。アグリコンの種類は数百であり、アグリコンで分類するとそれほど複雑ではない。まず、コーヒー酸、クルクミン、レスベラトロールのような単環構造のものと、多環のものに分けることができる。多環型はアントラキノンとフラボノイドに分類できる。アントラキノン漢方などの薬草の有効成分である。多様な生理活性が報告されているのはフラボノイドだが、フラボン、フラボノール、アントシアニン、イソフラボン、フラバノン、カテキン類

# NEWS LETTER

の6つに細分類されている（カルコンやオーロンもフラボノイドだが、食品成分としてはマイナーである）。これらの報告されている生理活性を表1にまとめてみた。他にも多様に生理活性が報告されているが、その作用濃度から見て、とてもヒト体内で有効と思えないので、無視した。活性の後ろのローマ数字は、主にその活性を示すポリフェノールの群である。筆者が活性構造相関から便宜上群分けしたもので、I群は単環型ポリフェノール、II群にはアントラキノン、フラボン、フラボノール、アントシアニンが含まれ、III群はイツフラボン、フラバノン、カテキンである。列記した活性の多くは、これらを摂取していれば発がんを抑えることができるとする「がん予防効果」、あるいはがんを治療できる「抗がん作用」にかかわるものである。しかし、果たしてこれらの活性が有効か否かは不明な点が多い。

食事ポリフェノールは消化管内では高濃度で存在するので、様々な活性が有効かもしれない。しかし、その吸収率は10～50%と低く、速やかに抱合され、排泄も早く体内半減期は2～9時間であり、ヒト体内濃度は低く1.5 μMほどと考えられている<sup>1-3)</sup>。したがって、ヒト体内で有効な活性は限られる。その生理活性は抗酸化能とタンパク質機能調節作用に大別できる。抗酸化能はポリフェノール類全般（I、II、III群）に共通だが、O-ジオール（カテコール）構造のものが低濃度でも顕著である。抗酸化能が強いポリフェノールは遺伝子の酸化損傷を抑えてがんを予防できる可能性がある。しかし、疫学研究では摂取量と冠動脈心疾患のリスクは逆相関するが<sup>4,5)</sup>、がんと逆相関するという研究結果はごく一部である<sup>6)</sup>。タンパク質機能調節作用については、その作用濃度と疫学研究結果から有効と思える活性を表

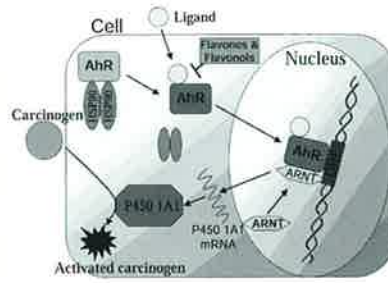


図1

にあげた。この作用はアグリコンの化学的立体構造の違いから3群に分類できる。II群のポリフェノールは、シトクロームP450 (CYP) 1A酵素類を阻害することで調理発がん物質であるヘテロサイクリックアミンの発がん性を抑える<sup>7)</sup>。また、アンタゴニスト的にアリル炭化水素受容体 (AhR) に作用してダイオキシンの毒性を軽減する<sup>8)</sup>。これらと化学構造がミラーイメージのIII群は、ステロイドホルモン受容体に作用して、それに関係するがんや骨粗しょう症を抑える<sup>9)</sup>。それぞれは他群の活性も示すが、1桁以上高い作用濃度を要求するので、ヒト体内では上記の活性のみが有効と思える。一方、I群の単環ポリフェノール類の一部は、薬物代謝系の第二相酵素を誘導すると言われている<sup>10)</sup>。発がん物質などの異物は第一相酵素のCYPが酸化的に代謝し、その産物をグルタチオントランスフェラーゼなどの第二相酵素類が処理する。しかし生体では一相と二相酵素の活性が一致して、一相酵素の酸化産物が蓄積することがある。酸化産物は活性酸素を生成したり、あるいは直接遺伝子を攻撃して酸化的損傷を与える。したがって第二相酵素の誘導は発がんを抑える可能性がある。

このようなポリフェノールの遺伝子発現調節は、介する受容体は異なるが、機構は類似している。フラボン、フラボノールによるダイオキシン毒性の軽減作用を例にあげてみる（図1）。ダイオキシン類は細胞質に存在するAhRに結合して形質転換させ、それを核内に移行させ、DNAのダイオキシン応答部位 (DRE、異物応答部位 XRE ともいう) に結合させ、その下流の遺伝子群

を発現させる。発現する遺伝子の多くは発がん、免疫不全、催奇形性に関わるものであり、例えばその一つのCYP1A1は、体内に存在している発がん前駆体物質を究極発がん体に活性化するとされている。フラボンとフラボノールは、このダイオキシン毒性発現機能の初発段階である、AhRの形質転換をアンタゴニストとして阻害する。そしてフラボン、フラボノール自体にはダイオキシンのようなアゴニスト作用はない。しかもアンタゴニスト作用は極めて低い濃度で有効である。例えば1nMのテトラクロロジベンゾダイオキシン (TCDD) に対して、フラボノールの一つのガランジンのIC<sub>50</sub>値は0.22 μMである。そしてこのアンタゴニスト作用はダイオキシンの濃度に依存する。ヒト体内のダイオキシン濃度はピコモルレベルと報告されているが、その濃度ならばフラボン・フラボノールはさらに一桁低い濃度で有効と思える。これらのデータは非細胞系で得られたものだが、最近筆者らはこの阻害活性が生体でも有効であることを見出している（未発表）。RL34細胞、あるいはSDラットにメチルコランスレン与えた場合にも、フラボン・フラボノールはAhRの形質転換を抑えた。

食事ポリフェノールの生理活性は多様に報告されているが、ヒトで有効な活性はおそらく表1にあげたものに限られると思う。アグリコンに生理活性があるのだが、体内では速やかにグルクロニドなどの抱合を受けて遊離のアグリコンとして存在する量は極めて低いと思えるからである。抗酸化能に関しては、抱合位置により、カテコール構造が残っていれば有効である。しかしタンパク質機能調節作用はアグリコンにしかない。最近下位らは<sup>11)</sup>、炎症組織ではグルクロニダーゼが漏出しており、炎症細胞は脱抱合してフラボノイドを取り込んでいる可能性が高いことを示している。それでも、ヒト体内に存在しえる総濃度は1.5 μMほどなので、アグリコンの形態で存在する量もこれを大きく超えるとは思えない。ポリフェノールは日常食品に豊富に含まれる成分なので、これでがんなどが予防できれば極めて好ましいことである。それを有効に利用するには、その活性を示す作用濃度を見極め、Evidence-based nutrients and medicinesの十分な研究が必要と思う。

## 参考文献

1. Hollman, P. C. H. & Katan, M. B. *Biomed. Pharmacother.* 51, 305-310 (1997).

表1 報告されているポリフェノールの生理活性

	IC <sub>50</sub>	あるいは作用のED <sub>50</sub> (μM)
抗酸化 (I、II、III)	IC <sub>50</sub>	1 - 100
CYP1A酵素活性抑制 (II)	IC <sub>50</sub>	0.1 - 10
AhR活性化抑制 (II)	IC <sub>50</sub>	0.14 - 5.5
AhR活性化 (II)	ED <sub>50</sub>	80 - 150
細胞周期に休止期誘導 (II)	ED <sub>50</sub>	40 - 150
ヒスタミン分泌調節 (II)	IC <sub>50</sub>	3 - 20
サイトキニン分泌調節	IC <sub>50</sub>	50 - 100
第二相酵素活性の誘導 (I)		-
腸のCOX-2とiNOS誘導抑制	IC <sub>50</sub>	< 50
ホスホリパーゼPLA <sub>2</sub> とD阻害	IC <sub>50</sub>	10 - 5000
タンパク質キナーゼ阻害 (II、III)	IC <sub>50</sub>	> 50
グルコースの細胞内取り込み調節 (III)	IC <sub>50</sub>	5 - 20
ステロイドホルモン分泌調節 (III)	IC <sub>50</sub> or ED <sub>50</sub>	1 - 5

2. de Vries *et al.* *Am. J. Clin. Nutr.* 68, 60-65 (1998).
3. Conquer *et al.* *J. Nutr.* 128, 593-597 (1998).
4. Hertog M. G. L. *Proc. Nutr. Soc.* 55, 385-397 (1996).
5. Arts *et al.* *Am. J. Clin. Nutr.* 74, 227-232 (2001)
6. Hirvonen *et al.* *Cancer Causes Control*, 12, 789-796 (2001).
7. Kanazawa *et al.* *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 62, 970-977 (1998).
8. Ashida *et al.* *FEBS Lett.* 476, 213-217 (2000).
9. Messina & Loprinzi, *J. Nutr.* 131, 3095s-3108s (2001).
10. Osawa, T, *Food Factors for Cancer Prevention*, Springer, Tokyo, pp. 39-46 (1997).
11. Shimoi *et al.* *Drug Metab. Disposi.* 29, 1521-1524 (2001).

## 細胞増殖に対する カロテノイドの作用

長尾 昭彦

(独立行政法人食品総合研究所食品素材部)



カロテノイドはイソプレン骨格に長鎖の共役二重結合を持つ色素で、主に野菜、果実から摂取される食品成分である。プロビタミンA活性、抗酸化作用、免疫賦活、細胞増殖抑制活性等の機能を持ち、発ガンの化学予防物質として注目されてきた。一方で、 $\beta$ -カロテンの介入試験でガン予防に関して否定的な結果が示され $\beta$ -カロテン大量投与の効果に疑問がもたれている。しかし、多くの疫学研究においてカロテノイドの摂取あるいは血漿カロテノイド濃度が各種ガンの危険率と負の相関があることを示され、動物モデルにおいて発ガン抑制を支持する多くの報告が集積している。食品から摂取される多様なカロテノイドも含め、発

ガン抑制の作用機構の裏付けが必要とされる。ヒト血漿中には、 $\beta$ -カロテン、 $\alpha$ -カロテン、リコペン、 $\beta$ -クリプトキサンチン、ゼアキサンチン、ルテインなどのカロテノイドが存在することはよく知られている。しかし、 $\xi$ -カロテン、フィトフルエン、フィトエン等の非環式カロテノイドのように血漿中にかなり存在するにも関わらず注目されなかったカロテノイドもある。さらに、ネオキサンチン、ピオラキサンチン、フコキサンチン(図-1)のように、通常の食生活で野菜や海藻から多量に摂取されているにもかかわらず、その体内動態が不明のカロテノイドもある。我々は、このような今まで注目されていなかった食品由来カロテノイドに焦点をあて、がん細胞の増殖に対する作用を調べてきたので、最近の知見を紹介する。

レチノイン酸はプロビタミンAカロテノイドの代謝産物であり、核内レセプターRAR、RXRのリガンドとして重要な働きを担っており、また、ヒト前骨髄性白血病細胞HL-60に対し分化誘導作用を持つことはよく知られている。カロテノイドについても、 $\beta$ -カロテン、ルテイン、リコペン、クロセチンなどが分化誘導活性を示すと報告されている。我々は、 $\beta$ -カロテン、リコペン、上記非環式カロテノイドのHL-60細胞に対する分化誘導作用を調べてみた。しかし、 $\beta$ -カロテンとリコペンの分化誘導作用は確認されず、また、細胞増殖に影響は見られなかった。一方、 $\xi$ -カロテンやフィトフルエンは、アポトーシスを誘導することを見出した<sup>1)</sup>。 $\xi$ -カロテンやフィトフルエンは培養条件下で急速に消失することから、これらのカロテノイドよりむしろその分解産物がアポトーシスを引き起こしている可能性が考えられた。そこで、これらのカロテノイドを溶媒中で予め自動酸化させて調製したカロテノイド酸化混合物の作用を調べてみると、リコペン、 $\xi$ -カロテン、フィトフルエンの酸化混合物は、著しくアポトーシスを誘導すること明らかとなった。リコペンと同程度に酸化させた $\beta$ -カロテンには、アポトーシス誘導は観察されず、非環式カロテノイドから特異的に生成する酸化産物がアポトーシス誘導に関与することが示唆された。

我々は、リコペンの自動酸化によって様々な物質が生成すること、その中には非環式レチノイン酸が含まれることをすでに明らかにしている<sup>2)</sup>。残念ながら、非環式レチノイン酸の生成量は少ないのでアポトーシス誘導への寄与は考えられない。リコペン酸化産物を分画し活性成分を調べていくと、様々な画分に活性が認められ、多様な酸化産物がアポトーシス誘導に関与していることが示唆された。カロテノイドは、そのもの自身が酸化に対し不安定であり、また、抗酸化作用を発揮するとき活性酸素と反応し分解する。したがって、生体内においてこのように酸化産物が生成し、何らかの影響を与えることが十分に考えられ、カロテノイドの生物活性に寄与していることが考えられる。

リコペンはトマトに含まれる主要なカロテノイドであり、トマトの摂取量あるいは血漿リコペン濃度は前立腺癌の危険率と負の相関があることが示されている。我々は、リコペンも含めて食品由来の15種類のカロテノイドのヒト前立腺癌細胞(PC-3、DU-145、LNCaP cells)に対する作用を調べた<sup>3)</sup>。その一部の結果を図-2に示す。確かにリコペンをはじめ種々のカロテン類がPC-3細胞の生存率(MTT法)をある程度低下させた。さらに、ネオキサンチンやフコキサンチンは著しく生存率を低下させ、アポトーシスを誘導することが分かった。これらのカロテノイドが有するアレシ構造がアポトーシス誘導に関与している可能性が考えられた。フコキサンチンは、化学発ガンモデルで抗プロモーション活性を持つことがすでに報告されている。したがって、これらの食事由来のカロテノイドが疫学研究によって示されるガン予防作用に関与している可能性が考えられる。ネ

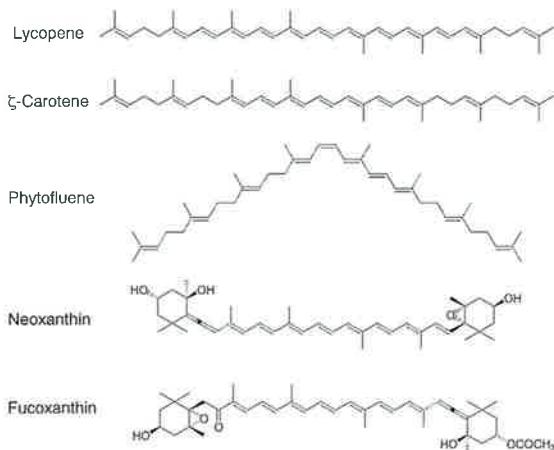


図-1 カロテノイドの構造

## ワサビ中の第二相解毒酵素誘導物質に関する研究

森光康次郎  
(お茶の水女子大学生活科学部)

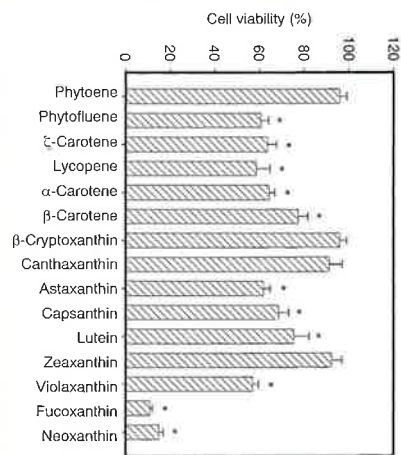


図-2 食品由来カロテノイドのPC-3ヒト前立腺がん細胞の生存率に対する影響  
テトラヒドロフラン (THF) に溶解したカロテノイドを培地に添加し、3日間培養後、MTT法にて生存率を調べた。カロテノイド濃度、20 μM；THF濃度、0.5% (v/v)。

オキササンチンは緑葉野菜に、フコキサンチンは褐藻類のワカメ、コンブに含まれる主要なカロテノイドである。しかしながら、その体内への吸収に関する知見はない。これらのカロテノイドの小腸での吸収を調べるため、小腸管腔の混合ミセルに可溶化して小腸上皮細胞モデルであるCaco-2細胞へ取り込みを調べたところ、非極性のβ-カロテンに比較して少ないながらも確かに細胞に取り込まれることが確認された<sup>1,2)</sup>。しかし、その体内動態は不明であり、実験動物、ヒトでの吸収、蓄積、代謝は今後の課題として残されている。

- 1) Nara, E., Hayashi, H., Kotake, M., Miyashita, K. & Nagao, A. (2001) Acyclic Carotenoids and Their Oxidation Mixture Inhibit the Growth of HL-60 Human Promyelocytic Leukemia Cells. *Nutr. Cancer*, **39**, 273-283
- 2) Kim, S. J., Nara, E., Kobayashi, H., Terao, J. & Nagao, A., (2001) Formation of Cleavage Products by Autoxidation of Lycopene. *Lipids*, **36**, 191-199.
- 3) Kotake-Nara, E., Kushiro, M., Zhan, H., Sugawara, T., Miyashita, K. & Nagao, A., (2001) Carotenoids Affect Proliferation of Human Prostate Cancer Cells. *J. Nutr.*, **131**, 3303-3306.
- 4) Sugawara, T., Kushiro, M., Zhang, H., Nara, E., Ono, H. & Nagao, A., (2001) Lysophosphatidylcholine Enhances Carotenoid Uptake from Mixed Micelles by Caco-2 Human Intestinal Cells. *J. Nutr.*, **131**, 2921-2927.
- 5) Sugawara, T., Baskaran, V., Tsuzuki, W., & Nagao, A., (2002) Brown algae fucoxanthin is hydrolyzed to fucoxanthinol during intestinal absorption. *J. Nutr.*, **132**, 946-951.

### はじめに

現在、発がんの重要なリスクファクターとして喫煙と食環境が大部分を占めていると考えられている。日常の食生活から発がんのリスクを負う以上、ヒトが「がん」との関わりを完全に断ち切ることとは不可能であるといえる。それ故、生命は進化の過程で生体に有害な異物に対して、ある種の防御機構を備えて来たのだと考えられる。それが免疫であり、異物代謝という解毒機構である。

生体における異物代謝は、第一相 (phase I) 解毒酵素と第二相 (phase II) 解毒酵素により行われ、特に、一連の第二相解毒酵素群は活性化された発がん物質を不活性化する重要ながん予防酵素として認識されている。すでに、がん予防食品因子を探る先駆的な研究として、米国のタラレーらは第二相解毒酵素の1つ、キノンレダクターゼ (QR) を誘導するスルフォラファンという物質をブロッコリー中より単離している<sup>3)</sup>。

これまで、がん予防における疫学調査研究の中で主役となってきたものは野菜や果物であり、その中から1つの野菜のカテゴリーが確固たるがん予防食品成分を含むものとして注目されている。それが本稿で採り上げるアブラナ科食用野菜であり、ワサビもそれに属する日本の伝統的な香辛野菜である。

### 食用野菜のスクリーニングとワサビ中の解毒酵素誘導物質

日常食している野菜の中で、特に葉菜・根菜・花菜類を中心としたものはアブラナ科植物に属しているものが実に多

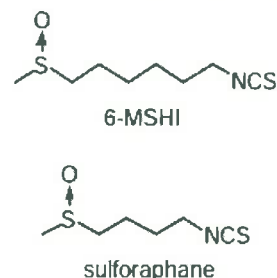


図1 ワサビイソチオシアネート (6-MSHI) とスルフォラファン (ブロッコリー) の構造

い。アブラナ科食用野菜中の成分で、がん予防効果につながり得る成分の一番手はやはりイソチオシアネート類である。ブロッコリー中のスルフォラファンもω-メチルスルフィニル型のイソチオシアネートであり、細胞でも動物実験でも臓器中の解毒酵素群を誘導する物質として報告されている<sup>3)</sup>。そこで我々も、第二相解毒酵素であるGST (グルタチオン-S-トランスフェラーゼ) 誘導活性について、ラット肝上皮細胞由来のRL34細胞を用いた簡便なスクリーニング系を構築し (内田ら、名古屋大学)、それを用いて入手可能だった和産の野菜・果物を中心にスクリーニングを行った。その結果、ユリ科ネギ属の野菜を挟んで、誘導活性の強かった上位はアブラナ科食用野菜で占められた。これはタラレーらの研究結果とほぼ一致するものだったが、ブロッコリーよりもさらに強いGST誘導活性を示したワサビという食用植物を明らかにできた。スクリーニングの結果は順に、ワサビ、クレソンが25 μg/mLの濃度で2.5倍以上の誘導活性を示し、タマネギ、ラディッシュ、ダイコン、ニンニクが2.0倍以上、次いでブロッコリーであった。

最終的にワサビより単離した主要なGST誘導物質は6-メチルスルフィニルヘキシルイソチオシアネート (6-MSHI；ワサビイソチオシアネート) であると同定した (図1)。ワサビ特有の香気成分と共に、衛藤と伊奈ら (静岡大学) によってワサビ中での定量がなされていた含硫成分であり、スルフォラファンと中央部の炭素側鎖長が異なるだけの同族体であった。

### ワサビイソチオシアネート (6-MSHI) のGST誘導物質活性と誘導機構

ワサビに特徴的な6-MSHIのGST誘導物質活性を調べる目的で、雌CD-1マウスにゾンデを用いた胃内強制投与を行い、同族体であるスルフォラファンとの誘導活性比較を行った。その結果、肝臓

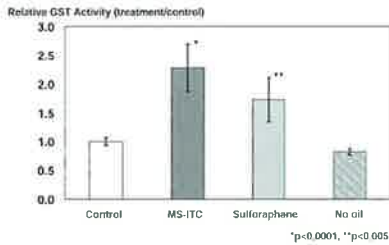


図2 ワサビイソチオシアネート (6-MSHI) の肝臓における GST 誘導活性

における 6-MSHI の GST 誘導活性は、スルフォラファンに比べ約 1.9 倍強いことが明らかとなった<sup>3)</sup> (図2)。QR についても同様の結果が得られ、さらにこの誘導が、タンパク質レベル、mRNA レベルで起こっていることも明らかにした。特に、RL34 細胞では、 $\alpha$  GSTA1 と  $\pi$  GSTP1 を同時に強く誘導することを確認した。

さらに、筑波大学との共同研究から 6-MSHI の GST 誘導機構についても調べ、以下の 3 つのことが現在までに明らかとなっている<sup>4)</sup>。1) 6-MSHI は antioxidant response element (ARE) を活性化している。2) 6-MSHI は ARE と結合する転写因子 Nrf2 の核内移行を誘導している。3) 6-MSHI は nfr2 遺伝子欠損マウスにおいては、全くの第二相解毒酵素誘導活性を示さなかった。

## 終わりに

定量分析の結果から、ワサビ中の 6-MSHI 含量はブロッコリー中のスルフォラファンと比べ約 20 倍以上多く含まれていることがわかった (約 5g のワサビ中の 6-MSHI 量 = 約 100g のブロッコリー中のスルフォラファン量)。実際に一日の食事で食べる量を考えたとき、実はワサビもブロッコリーもほぼ等量のイソチオシアネートを摂取していると計算される。何かを多く食べるとか、特に強いがん予防成分を摂取するとかを競うのは実に意味の無い話である。それよりも、同じアブラナ科食用野菜で、味も風味も全く違うワサビとブロッコリーに、同族体のがん予防効果が期待される成分が含まれていたのは大変興味深い。

まだ、この分野の研究はヒトにおいて本当に効果があるのかが実証しにくく、また効くとしたらどのような摂取形態がより効果的なのかという研究は、依然として進んでいないように思える。野菜自体のがん予防効果は確定した事実のように思えるが、ヒトに於いては実はそうではないのである。しかし、*in vivo*での研

究を積み重ね、分子レベルでの作用機構をより明らかにすることで、少しでも安全性とともにこの有用なワサビイソチオシアネートに代表されるがん予防食品成分の価値が認められるよう、これからも努力する必要があると考えている。

## 参考文献

- 1) Zhang, Y, Talalay P., Cho C. G., and Posner G. H., A major inducer of anticarcinogenic protective enzymes from broccoli: isolation and elucidation of structure, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 2399-2403 (1992).
- 2) Chung F. L., Morse M. A., Eklind K. I., New potential chemopreventive agents for lung carcinogenesis of tobacco-specific nitrosamine, *Cancer Res.* **52**, 2719s-2722s (1992).
- 3) 森光康次郎、「がん予防成分」、シーエムシー、pp.229-235、(1999年)。
- 4) Morimitsu, Y., Nakagawa, Y., Hayashi, K., Fujii, H., Kumagai, T., Nakamura, Y., Osawa, T., Horio, F., Itoh, K., Iida, K., Yamamoto, M., Uchida, K., A sulforaphane analogue that potently activates the Nrf2-dependent detoxification pathway, *J. Biol. Chem.*, **277**, 3456-3463 (2002).

## クルクミノイドと「がん予防」

大澤 俊彦  
(名古屋大学大学院生命農学研究科)



### 1. はじめに

われわれの研究グループは、長年、ウコン (ターメリック) に注目して研究を進めてきた。沖縄では、「ウコン茶」とか「ウッチン茶」とよばれ伝統的に愛用されてきたが、世界的には「ターメリック」としてインド料理をはじめとする香辛料としての役割のほうがよく知られている。われわれの研究グループが

「ウコン (ターメリック)」に注目したのは、主成分である黄色色素「クルクミン」の生体内代謝物である「テトラヒドロクルクミン」の持つ強力な抗酸化性であった。われわれの進めている「酸化ストレス予防食品開発」の基盤的研究には、「生研機構」からのサポートもあり、また、世界的にも大きな注目をあつめつつある。このように抗酸化食品が注目された背景には、活性酸素・フリーラジカルは「諸刃の刃」であり、われわれの体は一般に酸化—抗酸化のバランスがとれているのであるが、何らかの原因で過酸化側の方にバランスが崩れたときに「酸化ストレス」が生じ、この「酸化ストレス」による酸化傷害を予防することで、「がん」をはじめとする生活習慣病を予防できるのではないかと、この熱い期待がある<sup>1)2)</sup>。

一般に、われわれが日常口にする食品は、量的にはバラツキがあるもののほとんどすべての食品中に何らかの抗酸化成分が含まれており、しかも、その多くは植物由来である。例えば、油糧種子や穀類、植物のリーフワックスやハーブなど多種多様な植物素材があげられているが、特に注目されるのは、強い光に曝され、また厳しい酸化ストレスのもとで生育している植物に含まれている抗酸化成分である。すなわち、高温に晒され、しかも、強力な紫外線のもとでたくましく生育する沖縄に独特の植物には、自分自身を守り、また、生命を次世代に受け継ぐために、植物体内に抗酸化物質を持っているのではないかと、この考えである。しかも、このような植物中の抗酸化成分は、植物自身の酸化的障害からの保護に重要な役割を果たすと共に、そのような抗酸化成分を我々人間が摂取することによりがんをはじめ生活習慣病と呼ばれる疾病の予防への道を探ることができるとは思えないかと考えたわけである<sup>3)4)</sup>。

沖縄で一般的に飲まれている「ウッチン (ウコン) 茶」の素材は「アキウコン」であり、また、「ターメリック」としてインド料理には不可欠の香辛料でもある。沖縄には多くの注目すべき伝統的な食素材が存在しているが、沖縄で最も広く広まり、また、この「ウコン」の持つ新しい機能性、特に、「がん予防効果」には世界中の研究者が熱い視線を向けており、例えば、京都府立医大の西野教授は、「ウコン」の黄色色素「クルクミン」こそ、新しいがん予防の戦略物質である、と強調されている。沖縄の長寿食として数多くの食品素材が

あげられるが、私が長年研究に携わってきている「ウコン」は、沖縄伝統の食素材のなかで最も研究が進んでいるもので、また、世界的にみても、がんをはじめとする疾病の予防の最有力の「フードファクター」として期待され、また、個人的にも、沖縄滞在を通じて「ウッチン茶」を飲む習慣が沖縄の長寿の原因の一つと言われていることを身を持って体験したものとしても、本稿では、特に、この「アキウコン」の主要な黄色色素である「クルクミノイド」のもつ「がん予防効果」に焦点をあてて最近の話題を紹介して行きたい。

## 2. 「アキウコン」とは<sup>4)</sup>

亜熱帯に育った「アキウコン」は零下の世界では生きて行けないので、日本ではほとんど栽培されず伝統的に沖縄のみで生産されてきた。江戸中期時代には、「鬱金(ウコン)」と呼ばれた「アキウコン」(*Curcuma longa* L.) はかつてはシャムから多くきたが今は琉球から江戸へ多く運ばれ、木綿や紙を染色する目的で多く用いられた、と記載されている。「鬱金」は、沖縄では単に染色用だけでなく、当時特効薬のなかった結核、肋膜炎、喘息といった病気に効果を示すものとして、珍重され、さらに、ウコン茶(ウッチン茶)や発酵ウコン茶など、スパイスとしてよりもお茶の素材として伝統的に用いられてきたのである。しかしながら、世界的に見ると「アキウコン」の最大の生産国はインドであり、ほとんどが香辛料「ターメリック」として利用されている。毎年10万トン以上が生産されるが、95%は国内で消費され、インド以外では、中国南部の広東省でも生産され、ごく一部であるが台湾でも栽培され日本へ輸出されている。

この「アキウコン」の名前の由来は、秋(8-11月)に花を咲かせることに由来するが、ターメリックの近縁な植物として「ハルウコン」が知られている。「ハルウコン」というのは、同じショウガ科クルクマ属の*Curcuma aromatica* Salisb.で、インド原産であると共に沖縄でも自生している。この「ハルウコン」は、名前の通り、4-6月ごろ、葉の前か同時に開花し、主として生薬として用いられ、余り食用には用いられない。ハルウコンは、別名、キョウオウと呼ばれ、見た目には「アキウコン」によく似た植物体で花も似ているので区別はつきにくい、が、「アキウコン」の葉の裏側がつるつるしているのに比べて

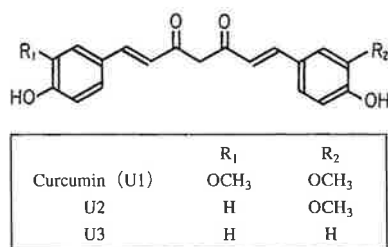


図1 ウコン (*Curcuma longa* L.) 中に存在するクルクミン類縁体

「ハルウコン」の葉の裏には毛があり、ざらざらした感触がある。しかし、最も異なるのは、ハルウコンの根茎には黄色色素の含量が少ないために薄い黄色である。また、同じ近縁の植物として、「シロウコン」とか「ムラサキウコン」と一般的に呼ばれる日本名が「ガジュツ」(*Curcuma zedoaria* Rosc.) も、形態は「アキウコン」や「ハルウコン」と似ており、「ハルウコン」と同じように春に紫がかかった白色をした花を咲かせる。「ガジュツ」の根茎は紫がかかった白色で、インド原産であるがスリランカやインドネシアで栽培され、ベンガルや南インドではカレーの賦香料としても用いられ、また、根部のデンプンを食糧に用いられる場合もあるが、強い苦みを持ち、主として薬用に用いられている。

このように、近縁の「ウコン」にはいくつか種類があるが、どうもその名称には若干の混乱も生じてきている。例えば、生薬では大先輩の中国では、一般に「鬱金」といわれているのは「ハルウコン」(*Curcuma aromatica* Salisb.) であり、逆に檳黄(キョウオウ)と称されているのが *Curcuma longa* L. である。しかしながら、何故、このように生薬の薬物名と植物名が中国と日本とは全く逆になったのか、その理由は不明である。

「アキウコン」の主成分は「クルクミノイド」と呼ばれる3種類のクルクミン類縁体の混合物である(図-1)。この鮮やかな黄金の色が太陽の色として「鬱金」の最も重要な役割であった。勿論、クルクミンが主成分であり、色素成分の80%以上を占めている。香辛料としての「ターメリック」の品質の評価には、このクルクミンの含量が重要な指標となる。「クルクミン」の利用として特によく知られているのは、沢庵漬の黄色である。沢庵の黄色は、塩分と微生物による自然の発色は、どうしても黄色になり難しく、黄色を強めるためには塩分を加えるという問題点があった。低塩化が叫ばれる今、沢庵漬にクルク

ミンは必須となっている。その外にも、ウインナーソーセージの羊腸の外側を染める目的で用いられ、クリやリンゴなどのシロップ漬けにも利用されている。勿論、ターメリックは他の数多くのスパイスと混合され、カレーパウダーとして用いられる場合が最も多く、インドでは、ターメリックをほとんど毎日のように料理に用いられ、特に芳香性や辛味効果を期待するために、調理の前にターメリックをはじめ10数種のスパイスをブレンドしてカレーパウダーを作る、ということはそれぞれの各家庭に伝統的な味が引き継がれている。このように、沖縄では「ウコン茶」や「ウッチン茶」としての利用が圧倒的に多い「ウコン」であるが、世界的には圧倒的に、香辛料、「ターメリック」として用いられている。私自身、この「ウコン」の機能性に関する研究に携わって10年弱になるが、最近の「ウコン」に対するマスコミの取り上げ方は、時には異常とも思えるほどである。

## 3. 「クルクミノイド」による「がん予防」

「鬱金」は漢方でも止血剤や健胃剤としては用いられ、また、インドやマレーシア、インドネシアなどで、特に、女性はターメリックを皮膚に塗る習慣があることは、既に紹介した通りである。「鬱金」には抗菌作用や抗炎症作用があることは、古くから知られており、単に化粧として塗られるだけでなく、経験的にこのような効果を利用し、紫外線による傷害や皮膚感染などを予防したものであろう。この「鬱金」の研究が世界的に進められたのは「鬱金」の主要な黄色色素である「クルクミノイド」であり、特に、80%以上を占める「クルクミン」のがん予防効果である。がんの発生のメカニズムとして一般的には「発がん多段階説」が受け入れられており、初期段階である「イニシエーション」、促進過程の「プロモーション」、悪性化の段階の「プログレッション」という少なくとも3段階が存在する<sup>6)</sup>。最近、アメリカと日本で、この「クルクミン」に強力な発がんプロモーションの抑制作用が見出され大きな注目が集められた。発がん研究で最も良く用いられる動物モデルが「皮膚がん」のモデルである。皮膚がんの動物実験は、マウスを用いて皮膚に発がんを起こさない量の発がん剤、7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) を塗布しておく。そこに、発がん促進剤、12-O-Tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) を塗ると皮膚がんを起